

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 05-247086

(43)Date of publication of application : 24.09.1993

(51)Int.Cl.

C07J 63/00
A23L 1/30
A23L 1/307
A61K 31/56
A61K 35/78
C07H 15/256

(21)Application number : 04-040651

(71)Applicant : KOWA KAGAKU KOGYO KK

(22)Date of filing : 31.01.1992

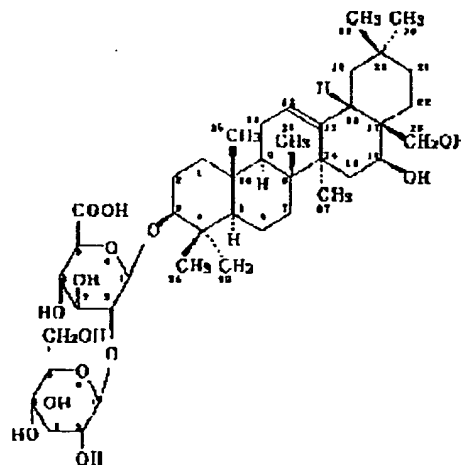
(72)Inventor : ATSUJI MIKITO
HIKIMOTO KATSUMI
YAMASHITA CHIAKI
IWASAKI YOSHIO

(54) 1-(3BETA-(16BETA,28-DIHYDROXYOLEAN-12-ENE)OXY)-2-O-BETA-D-GLUCOSE-BETA-D-GLUCURONIC ACID AND ITS PRODUCTION

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide the new triterpene glucoside not having unpleasant tastes such as an astringent or bitter taste and a sweetness-reducing action, and having a saccharide absorption-inhibiting action.

CONSTITUTION: 1-[3β-(16β,2β-Dihydroxyolean-12-ene)oxy]-2-O-β-D-glucose-β-D-glucuronic acid of the formula. The objective glucoside is obtained by extracting the leaves of *Gymnema inodorum* widely distributed in the Southeast Asia with a solvent, drying the extract solution, washing the dry product with an acid for removing basic components, defatting the remained product, extracting with acetone, drying the filtrate, extracting the dry product with diethyl carbonate, dissolving the obtained crude crystals in methanol, subjecting the solution to a HPLC, separating a fraction of 31.0-33.0min, and subsequently recrystallizing the fraction with a 50/50 acetone/chloroform mixture solvent.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision]

BEST AVAILABLE COPY

of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-247086

(43)公開日 平成5年(1993)9月24日

| (51)Int.Cl. ⁵ | 識別記号 | 庁内整理番号 | F I | 技術表示箇所 |
|--------------------------|------|---------|-----|--------|
| C 0 7 J 63/00 | | 9051-4C | | |
| A 2 3 L 1/30 | B | | | |
| 1/307 | | | | |
| A 6 1 K 31/56 | ADP | 7252-4C | | |
| 35/78 | C | 7180-4C | | |

審査請求 未請求 請求項の数2(全 9 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平4-40651

(22)出願日 平成4年(1992)1月31日

(71)出願人 591137086

恒和化学工業株式会社

大阪府豊中市豊南町南6丁目3番13号

(72)発明者 厚地 幹人

東京都大田区千鳥1-23-2

(72)発明者 引本 勝巳

神奈川県横浜市磯子区森が丘2-6-19

(72)発明者 山下 千明

東京都三鷹市下連雀1-27-4

(72)発明者 岩崎 善雄

東京都大田区山王2-30-10

(74)代理人 弁理士 中本 宏 (外2名)

(54)【発明の名称】 1-〔3β-(16β, 28-ジヒドロキシオレアン-12-エン)オキシ〕-2-O-β-D-グルコース-β-D-グルクロン酸及びその製造方法

(57)【要約】

【目的】 渋味、苦味等の不快な味、及び甘味抑制作用を有しない、糖質物の吸収抑制作用を有する新規なトリテルペン配糖体を提供する。

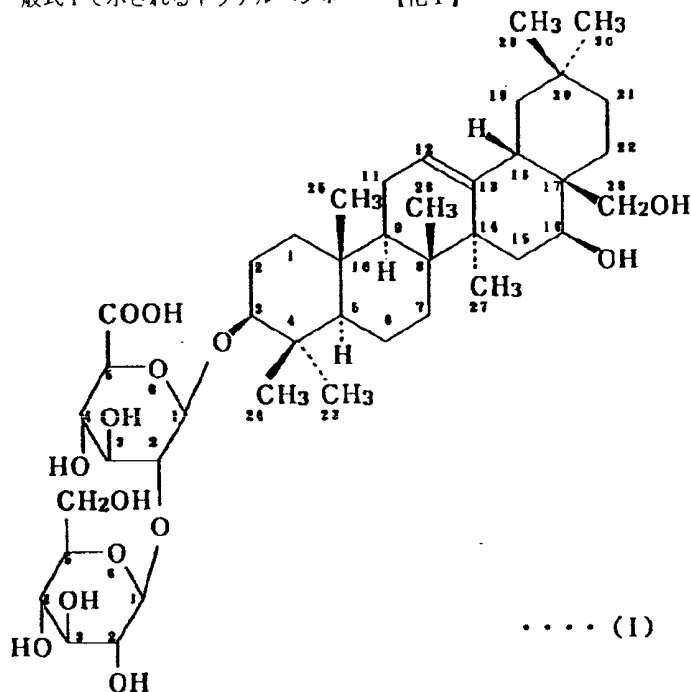
【構成】 本発明は、1-〔3β-(16β, 28-ジヒドロキシオレアン-12-エン)オキシ〕-2-O-β-D-グルコース-β-D-グルクロン酸及び東南アジアに広く分布しているギムネマ イノドラムの葉を溶媒で抽出し、抽出液を乾固し、酸で洗浄して塩基成分を除去し、ついで脱脂した後アセトンで抽出し、ろ液を乾固し、炭酸ジエチルで抽出して粗結晶を得、これをメタノールに溶解した後HPLCで31.0~33.0分の留分を分取した後アセトン-クロロホルム50/50の溶媒で再結晶して目的の配糖体を得る。

【特許請求の範囲】

* 配糖体

【請求項 1】 下記的一般式 I で示されるトリテルペン*

【化 1】



【請求項 2】 ギムネマ イノドラムの葉を溶媒で抽出ろ別し、ろ液を蒸発乾固して石油エーテルで洗浄後アセトンで抽出ろ別し、ろ液を乾固して炭酸ジエチルで抽出後、該抽出液より結晶を析出させることを特徴とする請求項 1 に示されるトリテルペン配糖体の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、渋味等の不快な味及び甘味抑制作用も殆んどない、糖質吸収抑制作用を有する新規なトリテルペン配糖体及びその製造方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】糖質吸収抑制作用のある物質としてはフロリジン、ギムネマ酸及びジジフィンが知られているが、ギムネマ酸及びジジフィンは甘味抑制作用を有しており、特にギムネマ酸は苦味を有しており、その使用面において問題があった。

【0003】本発明者等は、先に、東南アジアに広く分布しているギムネマ イノドラム (*Gymnema inodorum*)

という植物の葉に渋味、苦味及び甘味抑制作用を有せず、糖類の吸収抑制作用を有する物質を含有していることを見出し、ギムネマ イノドラムの葉を乾燥、焙煎し茶の形態にしたもの、或いはギムネマ イノドラムの葉を熱水やアルコール等で抽出し、これを濃縮又は乾燥した抽出成分を錠剤又は顆粒状とした糖質吸収抑制剤を提案した（特開平 3-172156 号公報参照）。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明者等は、その後、上記ギムネマ イノドラムの葉から、渋味・苦味及び甘味抑制作用を有せず、糖類の吸収抑制作用を有する有効成分を分離、精製する方法について鋭意研究した結果、その有効成分の抽出、単離に成功した。

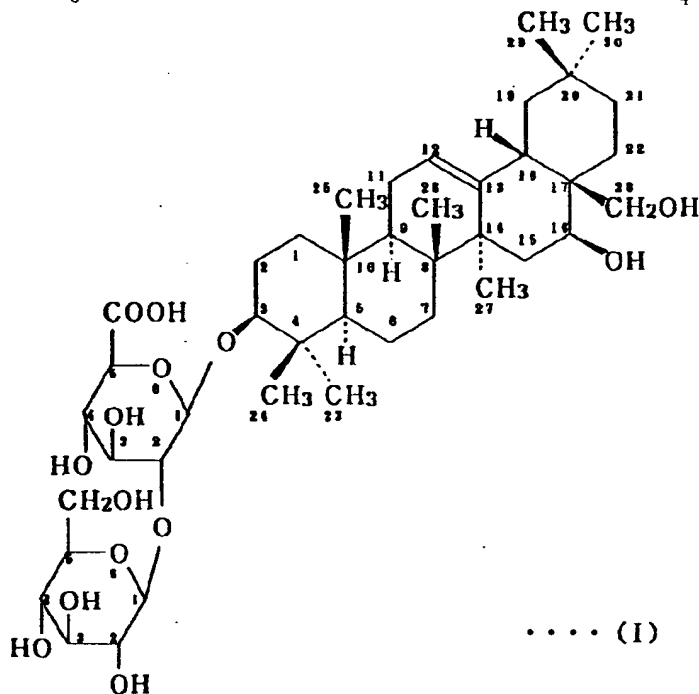
【0005】従って、本願発明は、該有効成分及びその製造方法を提供することを目的とするものである。

【0006】

40 【課題を解決するための手段】本発明は、

1. 下記的一般式 I で示されるトリテルペン配糖体

【化 1】



..... (I)

及び

【0007】2. ギムネマ イノドラムの葉を溶媒で抽出し、ろ液を蒸発乾固して石油エーテルで洗浄後アセトンで抽出し、ろ液を乾固して後炭酸ジエチルで抽出後、該抽出液より結晶を析出させることにより、上記1に記載したトリテルペン配糖体を製造する方法である。

【0008】以下、本発明について詳しく説明する。本発明のトリテルペン配糖体は、インド、ミャンマー、タイ、マレーシア、インドネシア、ベトナム及び中国に自生しているガガイモ科の植物であるギムネマイノドラム (*Gymnema inodorum*) の葉を水、メタノール或いは水-メタノール、水-エタノール等の混合溶剤で抽出し、粗精製工程を経て液体クロマトグラフィー等のクラマトグラフィーで単離・精製することによって得ることができる。

【0009】本発明の原料であるギムネマ イノドラムは *Flore Generale de L' Indo-China*, VI, 87, (1930)、中国高等植物図鑑第3冊、495, (1974)、*Thai Plant Names*, 169、*Florae Siamensis Enumeratio*, III, 21 (1951) 等に記載されている。

【0010】また、別の名称として広東匙羹藤 (中国高等植物図鑑第3冊、495, (1974)、*Cynanchum inodorum* (Fl. Cochinch., 166 (1790)) *C. reticulatum* (Obs. fasc. 2., 15)、*Bidaria inodora* (Fl. Brit. Ind., IV, 33)、*Gymnema tingens* (Fl. Brit. Ind., IV, 31等)、*Asclepias tingens* (Hort. Beng., 21 (1841)) などがある。

【0011】

【実施例】つぎに実施例を記載して本発明を詳しく説明するが、本発明は実施例に限定されるものではない。

【0012】実施例1

抽出工程

ギムネマ イノドラムの葉を60℃で16時間乾燥し約2mmカットに粉碎し、得られた乾燥粉碎葉100gに、メタノール1リットルを加え還流撹拌下に2時間抽出し、ろ別した。

【0013】水溶性塩基成分の除去

ろ液にセライト30gを添加し、減圧乾固(80℃/エバポレータ)し、乾固物51.2gをHClでpH2に調整した蒸留水1リットルで2回洗浄し、ろ別し、残渣を乾燥した。

【0014】脱脂・粗結晶化

乾燥残渣41.0gを石油エーテル200ccで2回繰り返して洗浄し、ろ別し、乾燥残渣36.8gをアセトン200ccで2回繰り返して室温で抽出してろ別し、ろ液の乾固物5.3gを炭酸ジエチル100ccで還流抽出を3回繰り返した。この抽出液は夫々保温ろ過し、ろ液より析出した結晶をろ別後真空乾燥することにより粗結晶1.4gを得た。

【0015】目的フラクションの分取

ついで、粗結晶をメタノールに溶解し10% (W/V) メタノール溶液とし分取用HPLCにて目的とするフラクションを分取した(1cc×10回)。HPLCによる分取条件は次のとおりである。

HPLC機種：東ソー8010シリーズ

システムコントローラー SC-8010

50 カラムオープン CO-8010

5

ポンプ C C P P - M
 フラクションコレクター F C - 8 0 1 0 他
 紫外可視検出器 U V - 8 0 1 0
 分取カラム : T S K ゲル O D S - 8 0 T M (2 1 . 5
 m m I D × 3 0 c m
 溶離液組成 : H₂ O / C H₃ C N / C H₃ C O O H =
 5 0 / 5 0 / 0 . 1 (アイソクラチック)
 流量 : 6 m l / 分
 検出波長 : 2 1 0 n m
 注入量 : 1 0 0 0 μ l (試料濃度 1 0 %) × 1 0 10
 回繰り返し
 分取フラクション : 3 1 . 0 ~ 3 3 . 0 分 (ピークタイ
 ム = 3 2 . 0 2 分)
 分取量 : 1 0 5 m g
 H P L C による分画チャートを図 1 に示す。
【0016】再結晶
 前記工程で得られた分取フラクション溶離液 1 2 0 c c
 を減圧乾固し (1 5 0 m g) 、 1 0 c c のアセトンに加
 熱溶解した後、少し白濁するまで (アセトンとほぼ等

6

量) 熱クロロホルムを加え、再度湯煎で加熱し完全に溶
 解した後放冷し、白色結晶を析出させ、ろ別し、真空乾
 燥することにより純度 1 0 0 . 0 0 % (H P L C によ
 る) の目的物であるトリテルペン配糖体 5 8 m g を得
 た。

【0017】得られたトリテルペン配糖体の特性は次の
 とおりであった。

融点 : 2 4 4 ~ 2 4 6 ° C

I R スペクトル : 3 4 0 0 (s) 、 2 9 5 0 (s) 、 1
 7 2 0 (m) 、 1 6 5 0 (m) 、 1 4 5 0 (m) 、 1 3
 6 0 (m) 、 1 2 6 0 (m) 、 1 2 0 5 (w) 、 1 1 6
 0 (m) 、 1 0 8 0 (s) 、 1 0 5 0 (s) 、 9 5 0
 (w) 、 9 2 5 (w) 、 9 0 0 (w) c m⁻¹

【0018】つぎに抽出工程において使用できる溶媒及
 び抽出条件、抽出効率を示すと次の表 1 に示すとおりで
 ある。

【0019】

【表 1】

表 1

| 抽出溶媒 | 抽出温度 (°C) | 抽出時間 (hr) | エキス収量 (%) | 目的成分の エキス中の 含有率 (%) | 目的成分の 抽出率 (%) |
|--------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------------------|------------------|
| a 19/1+0.1%ピリジン* | 還流 | 2 | 26.6 | 10.61 | 2.822 |
| b 蒸留水/エタノール=50/50 | 60 | 2 | 36.5 | — | — |
| | | 4 | 36.2 | — | — |
| | | 6 | 39.5 | — | — |
| | 還流 | 2 | 36.0 | 6.85 | 2.466 |
| | | 4 | 36.6 | — | — |
| | | 6 | 39.4 | — | — |
| c メタノール | 還流 | 2 | 25.1 | 9.43 | 2.367 |
| d 蒸留水/メタノール=50/50 | 還流 | 2 | 33.6 | 6.75 | 2.268 |
| e 蒸留水+ 0.1%炭酸水素ナトリウム* | 80 | 2 | 39.1 | 2.98 | 1.165 |
| f 蒸留水 | 60 | 2 | 30.9 | — | — |
| | | 4 | 29.9 | — | — |
| | | 6 | 32.0 | — | — |
| | 80 | 2 | 32.3 | 2.91 | 0.940 |
| | | 4 | 34.8 | — | — |
| | | 6 | 36.1 | — | — |
| | 還流 | 2 | 35.8 | — | — |
| | | 4 | 39.4 | — | — |
| | | 6 | 43.7 | — | — |
| g エタノール | 還流 | 2 | 13.8 | 6.51 | 0.898 |
| h 1-プロパノール | 還流 | 2 | 9.9 | 1.92 | 0.190 |
| i アセトン | 還流 | 2 | 7.2 | 0.45 | 0.032 |

* ピリジン、炭酸水素ナトリウムを抽出溶媒に添加するのは、抽出溶媒を塩基性になると抽出効率が上がるからである。Na₂CO₃を添加しても良い。

【0020】水溶性塩基成分の除去工程においてろ液にセライトを添加したのはエキスがタール状になり取り扱いが困難になるのを防止すると共に脱色を目的として添加したものである。セライト以外に、活性炭、シリカゲル、ゼオライト等を用いることもできる。

【0021】水溶性塩基成分の除去工程において洗浄水をpH2にするためにHClを用いたが、塩酸以外に硫酸、酢酸等他の酸を用いてもよい。

【0022】再結晶工程において使用する溶媒としてはアセトン/クロロホルム50/50の混合溶媒が望ましいが、アセトン/シクロヘキサン、アセトン/n-ヘキサン又はアセトン/ベンゼン混合溶媒を使用してもよい。

【0023】実施例2

抽出工程

実施例1で用いたのと同じ乾燥粉碎葉100gを水/エタノール(50/50)1リットルにて2時間還流撹拌抽出した後ろ過した。

【0024】水溶性塩基成分の除去

抽出工程で得られたろ液にセライト30gを添加し、減圧乾固した後(80℃/エバポレーター)、得られた乾固物63.7gをpH2の酢酸水溶液1リットルで2時間、2回繰り返して洗浄した後ろ別し、残渣を乾燥した。

【0025】脱脂・粗結晶化

水溶性塩基成分の除去工程で得られた乾燥残渣42.3gを石油エーテル200ccで2時間洗浄ろ別し残渣を乾燥した。得られた乾燥残渣35.6gをアセトン200ccを用いて室温で2時間抽出し、ろ液を乾固し、該乾固物5.5gを炭酸ジエチル100ccで3回繰り返して還流抽出した。抽出液を保温ろ過し、ろ液より析出した結晶をろ別後真空乾燥することにより粗結晶1.3gが得られた。

【0026】目的フラクションの分取

得られた粗結晶の10%(W/V)メタノール溶液を用いて実施例1と同じ分取用HPLCを用いて同様にして31.0~33.0分のフラクションを分取し、該フラクション溶離液120ccを減圧乾固して113mgの結晶を得た。

【0027】再結晶

該結晶113mgを実施例1と同様、アセトニッククロホルム溶媒20ccを用いて再結晶し、ろ過真空乾燥して融点244~248℃、純度99.8%(HPLCによる)の目的化合物であるトリテルペン配糖体72mgを得た。この化合物のIRスペクトルは実施例1で得られたチャートと一致していた。

【0028】本発明のトリテルペン配糖体は、腸管におけるグルコースの吸収を抑制し、急激な血糖値の上昇を抑えるという生理活性を有し、かつ渋味、苦味等全く有しない。

【0029】従って、糖類(含でん粉類)を含有する飲食物に添加することにより糖類の吸収を抑制した飲食物を提供することができ、インスリン分泌の不全によって高血糖をきたしている糖尿病患者の場合、腸管からの糖の吸収を抑えることにより疲弊した膵臓のインスリン分

泌細胞を保護することにより、糖尿病の治療及び予防に有効であると解される。

【0030】次に、本発明のトリテルペン配糖体の糖分の吸収抑制作用を示す。実施例1で得られたトリテルペン配糖体1mg及びCMC50mgを5ccの生理食塩水に加えることにより得られた懸濁液を、トリテルペン配糖体0.5mg/kgの割合でDDY系マウスに経口投与し、60分後にシュクロース1g/kgを同様に経口投与した。その後15分、30分、60分及び120分毎に眼底静脈より採血し血糖値を調べた。結果を図2に示す。

【0031】なお、DDY系マウスは、週令6~8週の雄で体重25~28gのものをを用い(n=10)、試験開始24時間前から絶食させたものをを用いた。空腹時の血糖値は65±5mg/dlであった。

【0032】つぎに、本発明のトリテルペン配糖体及び、従来糖吸収抑制作用のあることが知られているギムネマシルベスタより得られたギムネマ酸1及びギムネマ酸2について甘味抑制試験を行った。

20 試薬

実施例1で得られたトリテルペン配糖体及びギムネマ酸1, 2を0.01M/lの重曹(NaHCO₃)水溶液に溶かし0.08%のトリテルペン配糖体溶液を調整した。一方、0.1, 0.2, 0.3, 0.4及び0.5M/lの砂糖水を前もって調整しておき、以下の手続によって甘味抑制試験を行った。

【0033】試験手順

- 1) 5mlのトリテルペン配糖体又はギムネマ酸1, 2溶液を口に含み、口の中全体に行きわたるようにする。
 - 2) 2分後、試料溶液を吐き出し、蒸留水で口をよくゆすぐ。
 - 3) 上記砂糖水を濃度の低い方から順次口に含み、最初に甘さを感じた砂糖濃度を記録する。
- 結果を表2に示す。

【0034】

【表2】

表 2

| 試料溶液 | 砂糖濃度 (M/l) | | | | |
|---------|----------------|-------|-------|-------|-------|
| | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 |
| Control | ①②③④⑤ ○○○○○ | ①②③④⑤ | ①②③④⑤ | ①②③④⑤ | ①②③④⑤ |
| ギムネマ酸-1 | ××××× | ○×△×△ | ○○○×○ | ○○○△○ | ○○○○○ |
| ギムネマ酸-2 | ××××× | ××△×× | ×△△×× | ○○○○○ | |
| 本発明化合物 | △○○△○ | ○○○○○ | | | |

○：甘味を感じる ×：甘味を感じない △：よく判らない

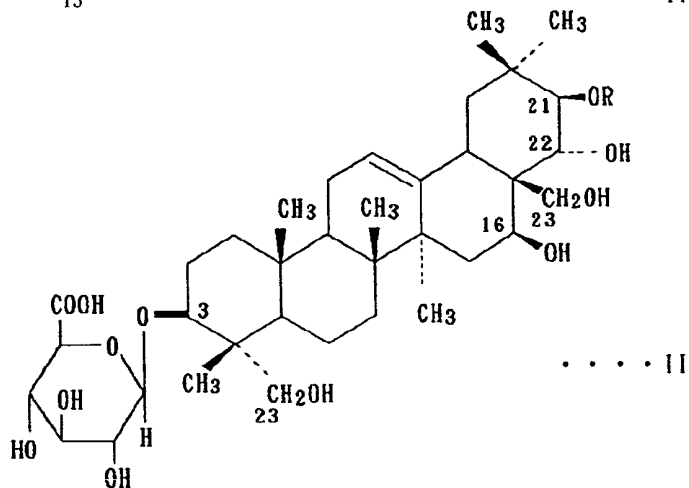
Control は、0.01 M/l の NaHCO₃ 溶液のみ。

【0035】表2の結果から、ギムネマ酸-1は、0.2M/lの砂糖水まで甘味を抑制し、また、ギムネマ酸-2は、0.3M/lの砂糖水の甘味を抑制するが、本発明のトリテルペン配糖体は、甘味抑制作用を有しないことがわかる。

【0036】なお、ギムネマ酸1は式IIで示される化合物においてRが式IIIで表わされ、ギムネマ酸2はRが式IVで表わされる化合物である。

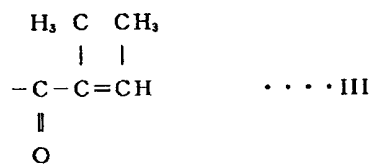
【0037】

【化2】



【0038】

【化3】



*となく、且つ、糖吸収作用を抑制するトリテルペン配糖体を提供することができ、飲食物添加剤として、或いは糖尿病治療剤として有用な化合物を提供することができる。

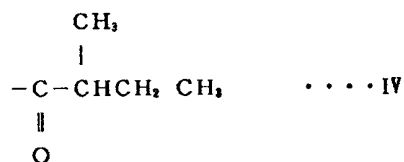
【図面の簡単な説明】

【図1】実施例1で得られ粗結晶のHPLCの分画チャートを示す図。

【図2】本発明のトリテルペン配糖体の糖分の吸収抑制作用を示す図。

【0039】

【化4】

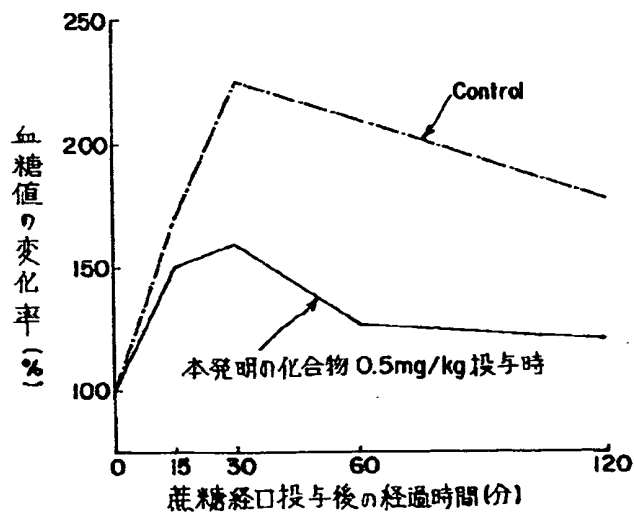


【0040】

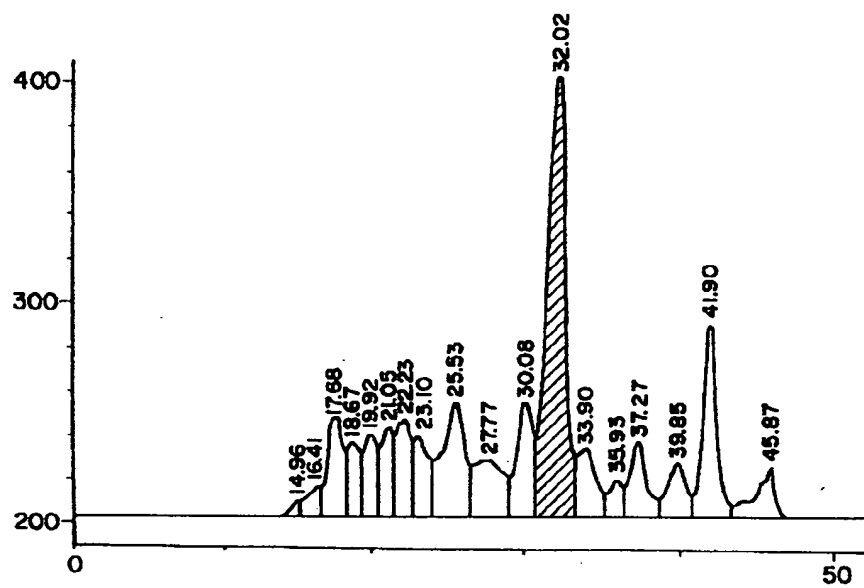
30

【発明の効果】本発明によれば、渋味、苦味を呈するこ*

【図2】



【図1】



フロントページの続き

(51) Int. Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

C 0 7 H 15/256

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

